Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 3, Fall 2024, p. 599-610

Effect of Different Rootstocks on Morphological, Phytochemical and Molecular Indicators of 'Thomson Navel' Orange Fruit at Commercial Maturity

F. Ahmadi[1*], M.M. Sharifani[2], A. Mousavi[3], N. Akhlaghi Amiri[4], M. Khoshhal Sarmast[2], Kh. Zaynali Nezhad[5]

1 and 2- Ph.D. Student and Associate Professor, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: Fatemeh.Ahmadi_s96@gau.ac.ir)
3- Associate Professor, Department of Plant Molecular Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran
4- Assistant Professor, Department of Horticulture Crops Research, Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Sari, Iran
5- Assistant Professor, Department of Plant Breeding & Biotechnology, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Received: 12-02-2024 Revised: 11-04-2024 Accepted: 05-05-2024 Available Online: 06-05-2024	**How to cite this article:** Ahmadi, F., Sharifani, M.M., Mousavi, A., Akhlaghi Amiri, N., Khoshhal Sarmast, M., & Zaynali Nezhad, Kh. (2023). Effect of different rootstocks on morphological, phytochemical and molecular indicators of 'Thomson Navel' orange fruit at commercial maturity. *Journal of Horticultural Science, 38*(3), 599-610. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2024.86813.1326

Introduction

External and internal quality of citrus such as color, shape and taste increase economic benefit. The vigour of each rootstock causes qualitative and quantitative change and the effective factor on commercial maturity, which is important for gardeners and producers. Considering the characteristics of the fruit in grafted trees, the present research was conducted with the aim of evaluating the effects of trifoliate orange, Citrange and Citrumelo rootstocks on some morphological, phytochemical and molecular traits of 'Thomson Navel' orange fruit.

Materials and Methods

This research was carried out in 2018 at Ghaemshahr Horticultural Research Station, Mazandaran. It was conducted in the form of randomized complete block design (RCBD) of uniform and 10-year-old 'Thomson Navel' orange grafted on 'trifoliate orange', 'Citrange' and 'Citrumelo' rootstocks with four replications. The samples were collected at the end of October and were transferred to the research laboratory of Horticulture Department, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources for further research. Measurements were made on the morphological traits, quality characteristics of the fruit, the phenolic compounds of the peel and the pulp of the fruit and relative expression of fruit pulp *sucrose phosphate synthase1* gene. Data variance analysis was done using SAS software (version 9.0). Mean comparisons were done with Duncan's multiple range test.

Results and Discussion

The results of analysis of variance showed that the rootstock effect on traits of length-to-diameter ratio, weight and density of 'Thomson Navel'orange was significant at the five percent probability level ($p \leq 0.05$) and the fruit length and diameter traits were significant at the one percent probability level ($p \leq 0.01$). The results of mean comparison showed that the characteristics of length, diameter, length-to-diameter ratio, weight and density of 'Thomson Navel' orange at commercial maturity on the trifoliate orange rootstock were more than the two other rootstocks. Due to the early harvest, the density of the fruit was recorded lower than one, so that the highest amount (0.5 g per cm^3) was observed in the rootstock of trifoliate orange however it was not significantly different from

https://doi.org/10.22067/jhs.2024.86813.1326

Citrange rootstock. Based on the results of analysis of variance, it showed that the effect of rootstock on total soluble solids was significant at the level of five percent. Also, the rootstock had a significant effect on titratable acidity, taste index, vitamin C, acidity, EC and total sugar at the level of one percent. However, the amount of vitamin C was higher in the Citrumelo rootstock. The highest amount of acidity and EC belonged to trifoliate orange rootstock and the lowest amount belonged to Citrange rootstock. The highest amount of total sugar was observed in the dwarfing trifoliate orange rootstock, while its lowest amount was recorded in the vigorous Citrumelo rootstock. The highest amount of total soluble solids was observed at the rootstock of the trifoliate orange. The amount of titratable acid in the Citrange rootstock was higher than the other two rootstocks. The taste index was higher in the trifoliate orange rootstock than the other rootstocks. According to the results of analysis of variance, the rootstock effect on the index of total phenol of fruit peel and pulp and total flavonoid of fruit peel was significant at the five percent probability level ($p \leq 0.05$) and only on the antioxidant activity of the fruit peel at the statistical level of one percent ($p \leq 0.01$). Also, there was no significant difference in total flavonoid traits and antioxidant activity of fruit pulp. The highest amount of total phenolic, total flavonoid and percentage of antioxidant activity was found in the trifoliate orange rootstock. Also, between the fruit organs, phenolic compounds were recorded more in the fruit peel compare to the fruit pulp. The peel of orange is more exposed to ultraviolet rays and changes in environmental conditions, Therefore more secondary metabolites accumulate in that part of the plant. The highest relative expression of fruit pulp *sucrose phosphate synthase1* gene was obtained in the Citrange rootstock.

Conclusion

The vigor of different citrus rootstocks caused the dwarf trees to have a higher accumulation rate of phytochemical indices than the vigorous trees. The trifoliate orange rootstock is suitable for fresh consumption due to the early commercial maturity of the fruit. Fruit peel rich in phenolic compounds is used for medicinal purposes. The technical knowledge from this research will be useful for citrus producers in East Mazandaran.

Keywords: Commercial maturity, Fruit size, Phenolic compounds, Rootstock, *SPS* gene

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص. ۵۹۹-۶۱۰

بررسی اثر پایه‌های مختلف بر شاخص‌های ریخت‌شناسی، فیتوشیمیایی و مولکولی میوه پرتقال 'تامسون‌ناول' در زمان بلوغ تجاری

فاطمه احمدی[۱*]- محمد مهدی شریفانی[۲]- امیر موسوی[۳]- نگین اخلاقی امیری[۴]- مصطفی خوشحال سرمست[۲]- خلیل زینلی‌نژاد[۵]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۱۶

چکیده

کیفیت بیرونی و درونی مرکبات از قبیل رنگ، شکل و طعم موجب افزایش سود اقتصادی می‌گردد. قدرت رشدی پایه نیز سبب تغییرات کمی و کیفی و عامل مؤثر بر زمان بلوغ تجاری میوه می‌باشد که برای باغداران و تولیدکنندگان حائز اهمیت است. با توجه به ویژگی‌های میوه در درختان پیوندی، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات سه پایه مختلف مرکبات بر برخی صفات ریخت‌شناسی، فیتوشیمیایی و مولکولی میوه پرتقال 'تامسون ناول' صورت گرفت. این تحقیق در سال ۱۳۹۸ در ایستگاه تحقیقات باغبانی قائم‌شهر، مازندران در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با درختان یکنواخت و ۱۰ ساله پرتقال 'تامسون‌ناول' پیوند شده روی سه پایه 'پونسیروس'، 'سیترنج' و 'سیتروملو' در چهار تکرار انجام شد. نمونه‌ها در اواخر مهرماه جمع‌آوری شده و به‌منظور ادامه تحقیقات به آزمایشگاه تحقیقاتی گروه باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل گردیدند. اندازه‌گیری روی صفات ریخت‌شناسی، ویژگی‌های کیفی و ترکیبات فنلی میوه و نیز بیان نسبی ژن ساکارزفسفات‌سنتاز صورت گرفت. نتایج نشان داد که صفات طول، قطر، نسبت طول به قطر، وزن و چگالی میوه پرتقال 'تامسون‌ناول' در زمان بلوغ تجاری روی پایه 'پونسیروس' نسبت به دو پایه دیگر میزان بیشتری داشت. در حالی‌که میزان ویتامین ث در پایه 'سیتروملو' بالاتر بود. بیشترین میزان اسیدیته و EC متعلق به پایه 'پونسیروس' و کمترین میزان آن متعلق به پایه 'سیترنج' بود. میزان قندکل و مواد جامد محلول در پایه پاکوتاه 'پونسیروس' بالاتر از سایر پایه‌ها مشاهده شد در حالی‌که کمترین میزان آن‌ها در پایه پابلند 'سیتروملو' ثبت گردید. اسیدیته قابل تیتراسیون و بیان نسبی ژن *CitSPS1* در پایه 'سیترنج' نسبت به دو پایه دیگر بالاترین مقدار بود. بیشترین میزان فنل کل، فلاونوئیدکل و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی در پایه 'پونسیروس' وجود داشت. قدرت رشدی پایه‌های مختلف مرکبات سبب شد که درختان پاکوتاه نسبت به درختان پابلند، میزان انباشت شاخص‌های فیتوشیمیایی بالاتری داشته باشند. به‌طور کلی پایه 'پونسیروس' به‌دلیل بلوغ تجاری زودرس میوه از توان مناسبی برای تازه‌خوری برخوردار گردید.

واژه‌های کلیدی: اندازه میوه، بلوغ تجاری، پایه، ترکیبات فنلی، ژن ساکارزفسفات‌سنتاز

مقدمه

کشور ایران از نظر تولید مرکبات در رتبه نهم جهانی قرار دارد (Citrus Word Statistics, 2022). استان مازندران با بیش‌از ۱۲۰ هزار هکتار سطح زیر کشت، جایگاه نخست در کشور را دارد به‌طوری که ۷۵ درصد سطح زیر کشت مرکبات شمال ایران به پرتقال اختصاص یافته است. پرتقال با نام علمی *Citrus sinensis* متعلق به تیره سدابیان[۲] می‌باشد (Swingle & Reece, 1967). رقم تامسون ناول در گروه پرتقال ناف‌دار بوده و از تنوع شکلی و رنگی بالایی

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیار گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: Fatemeh.Ahmadi_s96@gau.ac.ir)
۳- دانشیار گروه پژوهشی زیست فناوری مولکولی گیاهی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران
۴- استادیار بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران، ساری، ایران
۵- استادیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

https://doi.org/10.22067/jhs.2024.86813.1326
2- Rutaceae

برخوردار است. این رقم تجاری، زودرس و دوره رسیدن آن نه‌ماه است (Fotouhi Ghazvini & Fattahi Moghadam, 2007). افزون‌بر پیوندک، پایه بر صفاتی از قبیل اندازه درخت، عملکرد، شاخص برداشت و نیز کیفیت میوه مرکبات تأثیر می‌گذارد (Oustric et al., 2017; Macia-Vezquez et al., 2024). در بین ویژگی‌های پایه های مرکبات، پایه پیوندی پونسیروس[1] پاکوتاه با حجم تاج کوچک بوده ولی پایه سیترنج[2] نیمه‌پاکوتاه دارای حجم تاج کوچک تا متوسط و پایه سیتروملو[3] پابلند، پررشد و دارای حجم تاج متراکم است (Fattahi Moghadam, 2007& Fotouhi Ghazvini; Castle et al., 2010). بنابراین بررسی خصوصیات ترکیب پایه و پیوندک برای تغییر زمان برداشت رایج، راندمان محصول و عملیات باغداری ضروری بوده است. از این رو، یکی از سؤالات مطرح در عرصه کشت و پرورش مرکبات این است که آیا پایه با توجه به شاخص‌های ریخت شناسی، فیتوشیمیایی و مولکولی تأثیری بر کیفیت بیرونی و درونی در زمان بلوغ تجاری میوه پرتقال 'تامسون‌ناول' دارد؟ چرا که صفاتی نظیر ابعاد، رنگ و وزن میوه به‌طور مستقیم بر بازارپسندی و میزان فروش محصول مؤثر هستند و نیز نسبت مواد جامد محلول به اسیدیته‌کل میوه به‌عنوان شاخص قابلیت خوراکی و حد استاندارد مرکبات در نظر گرفته می‌شود (Fattahi Moghaddam et al., 2016). ژن ساکارزفسفات‌سنتاز[4] (*CitSPS*) از جمله ژن‌های کلیدی است که در انباشت ساکارز ایفای نقش می‌کند (Yamaki, 2010).

بیشترین ارزش غذایی مرکبات در میزان ویتامین ث شناخته شده است. با مصرف یک عدد پرتقال متوسط، ۱۳۰ درصد از نیاز روزانه بدن به این ویتامین برطرف می‌گردد. ویتامین ث در سلامتی انسان، کاهش خطر بیماری قلبی عروقی، تصلب شریان و در درمان برخی از سرطان‌ها مفید است (Sarkar et al., 2009). علاوه‌بر اهمیت صفات مذکور، در مراحل رشد میوه مرکبات بخش زیادی از انرژی گیاه به میوه انتقال می‌یابد اما انباشت آن در بخش‌های مختلف فلیودو، آلبدو و گوشت متفاوت است (Komatsu et al., 2002; Kato et al., 2004). از سویی دیگر، پوست میوه مرکبات دارای غده‌های روغنی بوده که محل انباشت متابولیت‌های ثانویه می‌باشد (Hemmati et al., 2015). در مقابل برخی فاکتورها مانند مواد جامد محلول در گوشت میوه بیشترین میزان را به خود اختصاص می‌دهد. در هر صورت نوع پایه و پیوندک نقش عمده‌ای در بیوسنتز متابولیت‌های گیاهی، بیان ژن‌های درگیر و نیز روند پیشرفت رنگ میوه دارند (Mashayekhi et al., 2014).

در بسیاری از ارقام زودرس مرکبات، پیش از رنگ‌گیری پوست میوه، بخش خوراکی آن به بلوغ تجاری می‌رسد. به همین دلیل، قبل از اینکه پوست آن‌ها به‌طور کامل تغییر رنگ دهد قابلیت آبگیری دارند و شاخص طعم میوه نسبت به‌رنگ پوست در آن معتبرتر است (Akhlaghi Amiri & Asadi Kangarshahi, 2022). وضعیت رشدی درخت در تعیین رنگ میوه دخیل است به‌طوری‌که در درختان با رشد زیاد و قوی، سطح پوست میوه کم‌رنگ‌تر است (Aguilar-Hernandez et al., 2020). سبززدایی در مرکبات با استفاده از اتیلن یا اتفن انجام می‌شود که در طی آن، رنگ سبز کلروفیل پوست تجزیه شده و در مقابل رنگدانه‌های زرد و نارنجی آشکار می‌شوند (Peng et al., 2013; Mesejo et al., 2021). به‌طور طبیعی، فرآیند بلوغ تجاری میوه همراه با تبدیل کلروپلاست به کروموپلاست اتفاق می افتد که این تغییر رنگ سطح پوست ناشی از زوال تصاعدی کلروفیل، افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و تولید کاروتنوئید است. انباشت کربوهیدرات موجب تحریک این فرآیند می‌گردد (Iglesias et al., 2007). از این حیث، امتیاز تولید میوه نوبرانه در عرضه به بازار رقابتی با استفاده از شاخص بلوغ تجاری میوه مهیا است. بر همین اساس، هدف از تحقیق حاضر شناخت برخی ویژگی‌های پرتقال 'تامسون ناول' تحت تأثیر سه پایه مرکبات در مراحل پایانی رشد و تعیین تأثیر پایه‌ها بر زمان بلوغ تجاری میوه است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این پژوهش میوه پرتقال 'تامسون‌ناول' روی سه پایه 'پونسیروس'، 'سیترنج' و 'سیتروملو' از درختان یکنواخت و ۱۰ ساله در اواخر مهرماه سال ۱۳۹۸ جمع‌آوری شد. این باغ واقع در ایستگاه تحقیقات باغبانی قائم‌شهر، وابسته به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران با عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۲۷ دقیقه شمالی است. به‌منظور ادامه تحقیقات، نمونه‌ها به آزمایشگاه تحقیقاتی گروه باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل گردیدند. آنالیز خاک مکان اجرای پژوهش در (جدول ۱) آورده شده است.

1- Trifoliate orange (*Poncirus trifoliate*)
2- Citrange (*P. trifoliata* × *C. sinensis*)
3- Citrumelo (*P. trifoliata* × *C. paradise*)
4- Sucrose phosphate synthase

جدول ۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک ایستگاه تحقیقات باغبانی قائم‌شهر، مازندران

Table 1- Characters of physicochemical soil in Ghaemshahr Horticultural Research Station, Mazandaran

عمق Depth (cm)	بافت خاک Soil texture	کربن آلی Organic carbon (%)	نیتروژن Nitrogen (%)	فسفر Phosphorus (mg.kg^{-1})	پتاسیم Potassium (mg.kg^{-1})	اسیدیته pH	هدایت‌الکتریکی EC (dS.m^{-1})
0-30	لوم Loam	1.00	0.084	15.2	116.7	7.49	0.35
30-60	لوم Loam	0.32	0.026	8.0	51.7	7.64	0.79

صفات ریخت‌شناسی

طول و قطر میوه پرتقال 'تامسون‌ناول' پس از برداشت توسط کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری گردید. اندازه‌گیری وزن میوه با ترازوی دیجیتالی با دقت یک صدم انجام شد. برای تعیین حجم میوه، درون استوانه‌ای مدرج تا ارتفاع معین آب ریخته شد، سپس میوه در آب غوطه‌ور شد. با توجه به میزان جابه‌جایی آب، حجم نمونه محاسبه گردید. تعیین چگالی میوه از تقسیم وزن میوه بر حجم میوه و بر حسب گرم بر سانتی‌متر مکعب انجام شد.

ویژگی‌های کیفی

به‌منظور ارزیابی صفات مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتراسیون، شاخص طعم، ویتامین ث، اسیدیته و EC میوه پرتقال 'تامسون‌ناول'، ابتدا میوه‌ها آبگیری شدند سپس عصاره‌ها مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد جامد محلول

برای اندازه‌گیری مواد جامد محلول، یک قطره عصاره میوه روی صفحه دستگاه رفرکتومتر (مدل ABBE، ساخت بلژیک) ریخته شد و غلظت املاح مواد جامد محلول بر حسب درصد بریکس ثبت گردید (Cherng & Ouyang, 2003).

اسیدیته قابل تیتراسیون

اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتراسیون با روش تیتراسیون انجام شد. ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر آب میوه با ۷۰ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب شد. سپس دو قطره فنل‌فتالئین (یک درصد) به محلول افزوده و با هیدروکسید سدیم تیتر شد. نقطه پایانی تیتر زمانی در نظر گرفته شد که رنگ صورتی نمایان گردید. میزان اسیدیته قابل تیتراسیون بر حسب میلی گرم اسید سیتریک در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه محاسبه گردید (Fallahi, 1990).

شاخص طعم

از تقسیم مواد جامد محلول بر اسیدیته قابل تیتراسیون، شاخص طعم محاسبه گردید.

ویتامین ث

به‌منظور تعیین محتوی ویتامین ث عصاره از روش تیتراسیون استفاده شد. ابتدا ۲۰ میلی‌لیتر از آب میوه با ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب شد و دو قطره نشاسته (۰/۵ درصد) به محلول فوق اضافه گردید. سپس این ترکیب با محلول ید تیتر شد. تیتراسیون تا زمانی‌که رنگ آبی در عصاره مشاهده شد ادامه یافت. میزان ویتامین ث بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه محاسبه گردید (Skinner,1997).

اسیدیته

اندازه‌گیری اسیدیته با قرار گرفتن سنسور دستگاه pH متر در عصاره صورت گرفت (Mashayekhi & Atashi, 2017).

EC

تعیین EC عصاره با کمک EC متر و بر حسب میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر محاسبه شد (Mashayekhi & Atashi, 2017).

قند کل

جهت استخراج قندکل از روش مکردی و همکاران (Mccready *et al.*, 1950) استفاده شد. در گام نخست ۱۰۰ میلی‌گرم از گوشت میوه تهیه شده با پنج میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد عصاره‌گیری شد. سپس در بن‌ماری با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ده دقیقه قرار داده و بعد از آن عصاره‌ها با دور ۳۵۰۰ دور در دقیقه، به‌مدت ده دقیقه سانتریفیوژ شدند. بعد از سانتریفیوژ، مواد روشناور داخل شیشه مکارتی ریخته و عمل فوق سه مرتبه تکرار گردید. عصاره جمع‌آوری شده در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا اتانول به‌طور کامل تبخیر گردید. بعد از خشک شدن اتانول، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به لوله‌ها اضافه شد تا مواد قندی در آن به‌طور کامل حل شدند. در گام بعدی، ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره قندی تهیه شده با سه میلی‌لیتر معرف آنترون ترکیب شد و پس از ۲۰ دقیقه قرار گرفتن در بن‌ماری

۱۰۰ درجه سانتی‌گراد، جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۲۰ نانومتر خوانده شد. میزان قندکل بر اساس منحنی استاندارد قندکل برآورد شد (Irigoyen *et al.*, 1992).

فنل کل

محتوی فنل‌کل با استفاده از معرف فولین–سیوکالتیو و با استفاده از روش اندازه‌گیری کیم و همکاران (Kim *et al.*, 2004) انجام شد. نیم‌گرم از پوست و گوشت میوه با پنج میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد هموژنیزه گردید. سپس ۲۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی با ۱/۱۶ میلی‌لیتر آب‌مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین ترکیب شدند. بعد از گذشت پنج دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر کربنات‌سدیم (یک مولار) به محلول اضافه شد تا واکنش خنثی گردید و پس از ۳۰ دقیقه قرار گرفتن در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UNICO 2800، ساخت آمریکا) خوانده شدند. محتوی فنل‌کل بر حسب میلی‌گرم اسیدگالیک در ۱۰۰ گرم وزن تر با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک محاسبه گردید.

فلاونوئید کل

برای تعیین محتوی فلاونوئید کل، از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم استفاده شد. در گام اول نیم‌گرم از پوست و گوشت میوه با پنج میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد عصاره‌گیری شد و در گام بعدی ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر کلریدآلومینوم (۱۰ درصد)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات‌پتاسیم (یک مولار) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب‌مقطر ترکیب شدند. سپس محلول‌ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک قرار داده شدند. جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر با کمک اسپکتروفتومتر قرائت شدند. محتوی فلاونوئیدکل بر اساس میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم وزن تر با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین به‌دست آمد (Chang *et al.*, 2002).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

به‌منظور محاسبه درصد مهار رادیکال آزاد یا فعالیت آنتی‌اکسیدانی از روش بلویس (Blois, 1958) مورد استفاده شد. یک میلی‌لیتر عصاره گیاهی با یک میلی‌لیتر معرف DPPH درون لوله آزمایش ریخته شد. سپس لوله‌های آزمایش حاوی محلول به‌مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شدند تا اثر بخشی مهار رادیکالی توسط DPPH صورت پذیرد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده و با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی= [(جذب کنترل– جذب نمونه)/ جذب کنترل] × ۱۰۰

بیان ژن

استخراج RNA و سنتز cDNA

استخراج RNA کل از گوشت میوه پرتقال 'تامسون‌ناول' با استفاده از کیت تریازول صورت گرفت. سپس ارزیابی کیفی RNA استخراج شده با روش الکتروفورز روی ژل آگارز یک درصد تعیین شد. به‌منظور حذف آلودگی DNA ژنومی از RNAهای استخراجی، تیمار آنزیم DNaseI انجام گرفت. پس از اطمینان از کیفیت، سنتز cDNA با استفاده از کیت تجاری سیناکلون صورت گرفت.

آغازگرهای اختصاصی ژن *CitSPS1* و ژن *CitActin* به‌عنوان کنترل داخلی جهت انجام واکنش Real-Time PCR مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۲). در نهایت سنجش بیان‌ژن‌ها با سه تکرار تکنیکی و روش اختلاف در تغییرات چرخه آستانه‌ای[1] $2^{-\Delta\Delta CT}$ صورت گرفت.

آنالیز آماری داده‌ها

این آزمایش بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تیمار پایه‌های 'پونسیروس'، 'سیترنج' و 'سیتروملو' و چهار تکرار انجام شد. هر تکرار شامل سه عدد میوه پرتقال 'تامسون‌ناول' بود. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۰) صورت گرفت. مقایسه میانگین با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۰ استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر پایه بر نسبت طول به قطر، وزن و چگالی پرتقال 'تامسون‌ناول' در سطح احتمال پنج درصد و صفات طول و قطر میوه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید. تنها در صفت حجم میوه در پایه‌های مختلف مرکبات تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴) در صفات ریخت‌شناسی میوه پرتقال 'تامسون‌ناول' مشخص گردید که در پایه 'پونسیروس' طول میوه افزایش آماری معنی‌داری نسبت به دو پایه دیگر نشان داد (۸۱/۹۱ میلی‌متر). هم‌چنین قطر میوه در این پایه بیشتر از پایه‌های دیگر بود (۷۹/۲۶ میلی‌متر) و این افزایش نسبت به پایه 'سیتروملو' از نظر آماری معنی‌دار بود. نسبت طول میوه به قطر میوه در پایه 'پونسیروس'

1- Cycle of threshold

افزایش معنی‌داری نسبت به دو پایه دیگر نشان داد. از این رو میوه‌ها روی پایه ’پونسیروس‘، ظاهری کشیده‌تر و روی پایه‌های ’سیتروملو‘ و ’سیترنج‘، شکلی گردتر داشتند. بیشترین میزان وزن میوه پرتقال ’تامسون‌ناول‘ متعلق به پایه ’پونسیروس‘ بود (۲۴۸ گرم). حجم میوه در پایه ’سیترنج‘ بالاتر بود اما با دو پایه دیگر در یک سطح آماری قرار داشت. به‌دلیل برداشت زودتر از موعد، چگالی میوه پائین‌تر از یک ثبت گردید به‌طوری‌که بالاترین میزان (۰/۵ گرم بر سانتی‌متر مکعب) در پایه ’پونسیروس‘ مشاهده گردید اگرچه با پایه ’سیترنج‘ تفاوت معنی‌داری نداشت. این نتایج، با یافته‌های جاسکانی و همکاران (Jaskani *et al.*, 2006) که پایه‌های مرکبات در برخی شاخص‌های ریخت‌شناسی میوه در زمان برداشت تفاوت نشان داده است، همخوانی دارد. براساس مطالعات انجام شده توسط حیات و همکاران (Hayat *et al.*, 2022)، پاکوتاهی پایه را عاملی برای افزایش عملکرد محصول دانسته‌اند. اهمیت ابعاد میوه در سیستم حمل و نقل، سورتینگ و بسته‌بندی، شاخص وزن میوه بر قیمت فروش و میزان چگالی برای جابه‌جایی مرکبات و صنایع فرآوری در نظر گرفته می‌شود (Razavi & Akbari, 2009 ;Sattar *et al.*, 2014 Khojastehnazhand; *et al.*, 2010).

جدول ۲- ویژگی‌های آغازگرهای مورد مطالعه در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز میوه پرتقال ’تامسون‌ناول‘

Table 2- Characteristics of the used primers in RT-qPCR reaction for ‘Thomson Navel’ orange

نام ژن Genes	آغازگر رفت Forward primer (5' to 3')	آغازگر برگشت Reverse primer (5' to 3')
CitSPS1	GTCCTACTCGTTACTTCGT	TTCCTCTCCTTCAATCTGTT
CitActin	CATTAGCACCAAGCAGCAT	GCCAGACTCATCATACTCAGA

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر پایه‌های مختلف بر صفات ریخت‌شناسی میوه پرتقال ’تامسون‌ناول‘

Table 3- ANOVA for the effect of different rootstocks on the morphological traits of ‘Thomson Navel’ orange fruit

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی D.F	میانگین مربعات Mean squares					
		طول Length	قطر Diameter	نسبت طول به قطر Length/Diameter	حجم Volume	وزن Weight	چگالی Density
بلوک Block	3	4.295^{ns}	2.438^{ns}	0.001^{ns}	1.194^{ns}	60.083^{ns}	0.001^{ns}
پایه Rootstock	2	193.025**	45.713**	0.011*	72.750^{ns}	2605.083*	0.011*
خطا Error	6	2.259	1.604	0.001	19.194	206.750	0.001
ضریب تغییرات CV (%)		2.03	1.67	2.50	0.89	6.48	6.30

** و * به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد

**and * significant at 1% and 5% of probility levels, respectively.

جدول ٤- اثر پایه‌های مختلف بر صفات ریخت‌شناسی در میوه پرتقال ’تامسون‌ناول‘

Table 4- The effect of different rootstocks on the morphological traits in ‘Thomson Navel’ orange fruit

رقم Cultivar	طول Length (mm)	قطر Diameter (mm)	نسبت طول به قطر Length/Diameter	حجم Volume (cm^3)	وزن Weight (g)	چگالی Density ($g.cm^{-3}$)
پونسیروس Trifoliate orange	81.91 a	79.26 a	1.03 a	469 a	248 a	0.50 a
سیترنج Citrange	71.10 b	75.99 ab	0.95 b	490 a	220 ab	0.47 ab
سیتروملو Citrumelo	68.96 b	72.50 b	0.93 b	487 a	197 b	0.40 b

میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد ندارند.

Means with same letters show nonsignificant different at $p \leq 0.05$.

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۵) اثر پایه روی مواد جامد محلول در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر پایه روی صفات اسیدیته قابل تیتراسیون، شاخص طعم، ویتامین ث، اسیدیته، EC و قندکل تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد داشت.

نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۶) بیانگر آن است که بیشترین مواد جامد محلول (۱۰/۲۰ درصد بریکس) متعلق به پایه 'پونسیروس' بود در حالی‌که با پایه 'سیترنج' در یک سطح آماری قرار داشت. بیشترین درصد اسیدیته قابل تیتراسیون در پایه‌های 'سیترنج و 'سیتروملو' وجود داشت و کمترین میزان آن نیز در پایه 'پونسیروس' به‌دست آمد. شاخص طعم میوه در پایه 'پونسیروس' بالاتر از سایر پایه‌ها بود. بیشترین میزان ویتامین ث در پایه‌های 'سیترنج' و 'سیتروملو' وجود داشت. بیشترین و کمترین اسیدیته میوه به‌ترتیب مربوط به پایه 'پونسیروس' (۳/۳۵) و 'سیترنج' (۲/۷۴) بود. بالاترین میزان EC در پایه 'پونسیروس' (۳/۸۴ میلی زیمنس بر سانتی‌متر) به‌دست آمد. حداکثر میزان قند کل (۳۲/۷۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در پایه 'پونسیروس' بود در حالی‌که حداقل میزان (۲۵/۳۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) آن در پایه 'سیتروملو' مشاهده شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد تا زمانی‌که میوه روی درخت است، نوعی رقابت بر سر کربوهیدرات قابل دسترس وجود دارد که در نهایت منجر به تخلیه عناصر غذایی گیاه از برگ‌های منبع به سمت میوه 'تامسون‌ناول' می‌شود. بر همین اساس، قدرت رشدی درختان پاکوتاه 'پونسیروس' با حجم تاج کوچک می‌تواند سبب انتقال سریع‌تر مواد غذایی به میوه شود ولی در مقابل در درختان پابلند 'سیتروملو' با حجم تاج گسترده سرعت نقل و انتقال کندتر مواد غذایی منجر به انباشت کمتر قند می‌گردد. در بین پارامترهای بیوشیمیایی متعدد در سایر گونه‌های مرکبات تفاوت چشمگیری مشاهده شد (Gaikwad *et al.*, 2018). به گفته مازون و همکاران (Maazoun *et al.*, 2022) میزان اسیدیته و مواد جامد محلول میوه پرتقال روی پایه 'سیترنج C35' بیشترین میزان را داشت. در مطالعه‌ای دیگر مشخص گردید که ارتباط پایه و پیوندک بر زمان بلوغ فیزیولوژیک در مرکبات تأثیر گذاشته، به‌گونه‌ای که بالاتر بودن اسیدیته نارنگی روی پایه نارنج سبب تأخیر در زمان بلوغ فیزیولوژیک میوه در مقایسه با سایر پایه شده است (Maazoun *et al.*, 2022; Macia-Vazquez *et al.*, 2024). علاوه‌بر این، میزان اسید آسکوربیک (ویتامین ث) در حین رسیدن میوه تابع عواملی مانند رقم، زمان برداشت و شرایط محیطی گزارش گردید (Magwaza *et al.*, 2017).

طبق نتایج تجزیه واریانس اثر پایه روی شاخص فنل‌کل پوست و گوشت میوه و فلاونوئیدکل پوست میوه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار و فقط بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست میوه در سطح آماری یک درصد معنی‌دار بود. هم‌چنین در صفات فلاونوئیدکل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گوشت میوه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۷). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۸) نشان داد که بیشترین میزان فنل‌کل پوست و گوشت میوه در پایه 'پونسیروس' در مقایسه با دو پایه دیگر وجود داشت. به‌طوری‌که میزان فنل‌کل در پوست میوه نسبت به گوشت میوه بالاتر بود. بیشترین میزان فلاونوئیدکل پوست و گوشت میوه در پایه 'پونسیروس' مشاهده شد. اما در گوشت میوه با دو پایه دیگر در یک سطح آماری قرار داشت و در پوست میوه با پایه 'سیترنج' تفاوت معنی‌داری نداشت. هم‌چنین میزان فلاونوئیدکل در اندام پوست میوه بیشتر از گوشت میوه ثبت گردید. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست میوه متعلق به پایه 'پونسیروس' بود (۷۷/۳۱ درصد). به‌طوری‌که فعالیت آنتی اکسیدانی پوست میوه در مقایسه با گوشت میوه بیشتر بود. از آنجایی‌که پوست میوه پرتقال 'تامسون‌ناول' بیشتر در معرض پرتو فرابنفش و تغییرات شرایط محیطی قرار دارد بنابراین، متابولیت‌های ثانویه بیشتری در آن انباشت می‌گردد. در بررسی همتی و همکاران (Hemmati *et al.*, 2018) گفته شد که ارجحیت انباشت مواد فنلی در میوه مرکبات قبل از هر عاملی به خصوصیات ژنتیکی و نیز توانمندی ذاتی ارقام وابسته است (Nawaz *et al.*, 2020; Milosevic *et al.*, 2023). بررسی‌ها نشان داد که پوست میوه انار و سیب نیز ترکیبات فنلی بیشتری در مقایسه با گوشت میوه برخوردار است (Tehranifar *et al.*, 2011; Bakhshi *et al.*, 2014). زیرا پوست میوه محل انباشت غده‌های روغنی و زرد رنگ بوده و به موجب آن انباشت متابولیت‌های ثانویه در آن بخش گیاه متمایز عمل می‌کند (Hemmati *et al.*, 2015).

نتایج مقایسه میانگین در سطح مولکولی نشان داد که بیشترین سطح بیان نسبی ژن *CitSPS1* در پایه 'سیترنج' و کمترین آن در پایه 'سیتروملو' به‌دست آمد (شکل ۱). عدم تطابق بیشترین بیان نسبی پایه با نتایج انباشت قندکل به اهمیت نوع نسخه ژن مرتبط بود. هم‌چنین این تفاوت می‌تواند ناشی از اثر بیان سایر ژن‌ها مانند اینورتاز و ساکارزسنتاز در انباشت قندکل باشد. براساس مقایسه‌ای که بین سازوکار نسخه‌های مختلف ژن *CitSPS* در پایه‌های 'پونسیروس' و 'فلائینگ‌دراگون' انجام گرفته نشان می‌دهد که این تغییرات در میزان رونوشت ژن به ساختار ژنومی، رقم و مرحله نموی گیاه و نیز عوامل محیطی برمی‌گردد (HongDong *et al.*, 2019; *et al.*, 2022).

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر پایه‌های مختلف بر ویژگی‌های کیفی در پرتقال 'تامسون‌ناول'

Table 5- ANOVA for the effect of different rootstocks on the quality characteristics of 'Thomson Navel' orange fruit

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی D.F	میانگین مربعات Mean squares						
		مواد جامد محلول TSS	اسیدیته قابل تیتراسیون TA	شاخص طعم Flavor index	ویتامین ث Vitamin C	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی EC	قندکل Total sugar
بلوک Block	3	0.067^{ns}	0.001^{ns}	0.110^{ns}	1.041^{ns}	0.001^{ns}	0.007^{ns}	0.55 ^{ns}
پایه Rootstock	2	1.191*	0.351**	28.241**	20.921**	0.370**	0.56**	143.79 **
خطا Error	6	0.052	0.001	0.673	0.213	0.009	0.013	0.312
ضریب تغییرات (%) CV		2.34	6.97	8.89	1.59	3.18	3.27	1.99

** و * به‌ترتیب معنی‌دار در سطح یک و پنج درصد.

**and * significant at 1% and 5% of probility levels, respectively.

جدول ٦- مقایسه میانگین اثر پایه‌های مختلف بر ویژگی‌های کیفی در پرتقال 'تامسون‌ناول'

Table 6- Comparison of the average effect of different rootstocks on the quality characteristics in 'Thomson Navel' orange

رقم Cultivar	مواد جامد محلول TSS (%)	اسیدیته قابل تیتراسیون TA (%)	شاخص طعم Flavor index	ویتامین ث Vitamin C (mg.100g^{-1} FW)	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی EC (mS.cm^{-1})	قندکل Total sugar (mg.g^{-1} DW)
پونسیروس Trifoliate orange	10.20 a	0.90 b	11.35 a	25.9 b	3.35 a	3.84 a	32.71 a
سیترنج Citrange	9.83 a	1.43 a	6.97 b	30.1 a	2.74 c	3.10 c	26.40 b
سیتروملو Citrumelo	9.13 b	1.40 a	6.55 b	30.9 a	3.02 b	3.43 b	25.31c

میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد ندارند.

Means with same letters show nonsignificant different at $p \leq 0.01$.

جدول ۷- تجزیه واریانس اثر پایه‌های مختلف بر صفات فیتوشیمیایی در پوست و گوشت میوه پرتقال 'تامسون‌ناول'

Table 7- ANOVA for the effect of different rootstocks on the phytochemical traits in the peel and the pulp of the 'Thomson Navel' orange fruit

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی DF	میانگین مربعات Mean squares					
		فنل‌کل گوشت Pulp total phenol	فنل‌کل پوست Peel total phenol	فلاونوئیدکل گوشت Pulp total flavonoid	فلاونوئیدکل پوست Peel total flavonoid	فعالیت آنتی‌اکسیدانی گوشت Pulp antioxidant activity	فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست Peel antioxidant activity
بلوک Block	2	0.014^{ns}	0.004^{ns}	0.002^{ns}	0.006^{ns}	0.156^{ns}	0.199^{ns}
پایه Rootstock	2	0.035*	0.388*	0.002^{ns}	0.031*	1.482^{ns}	15.140**
خطا Error	6	0.003	0.017	0.002	0.001	1.111	0.554
ضریب تغییرات CV (%)		2.65	5.39	4.43	2.11	1.73	0.98

** و * به‌ترتیب معنی‌دار در سطح یک و پنج درصد.

**and * significant at 1% and 5% of probility levels, respectively.

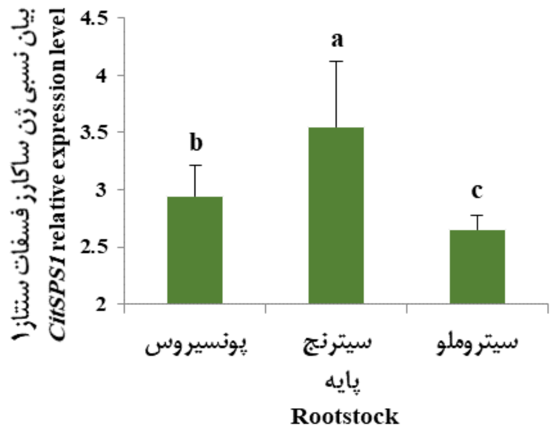
جدول ۸- اثر پایه‌های مختلف بر صفات فیتوشیمیایی در پوست و گوشت میوه پرتقال 'تامسون‌ناول'

Table 8- The effect of different rootstocks on the phytochemical traits in the peel and the pulp of the 'Thomson Navel' orange fruit

رقم Cultivar	فنل کل گوشت Pulp total phenol (mg.g-1 DM)	فنل کل پوست Peel total phenol (mg.g-1 DM)	فلاونوئیدکل گوشت Pulp total flavonoid (mg.g-1 DM)	فلاونوئیدکل پوست Peel total flavonoid (mg.g-1 DM)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی گوشت Pulp antioxidant activity (%)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست Peel antioxidant activity (%)
پونسیروس Trifoliate orange	2.21 a	2.80 a	1.11 a	1.89 a	61.69 a	77.31 a
سیترنج Citrange	2.07 b	2.35 b	1.09 a	1.80 ab	60.84 a	75.84 b
سیتروملو Citrumelo	2.00 b	2.20 b	1.06 a	1.71 b	60.51 a	73.46 b

میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد ندارند.

Means with same letters show nonsignificant different at $p \leq 0.05$.



شکل ۱- اثر پایه‌های مختلف بر بیان نسبی ژن ساکارزفسفات‌سنتاز ۱ میوه پرتقال 'تامسون‌ناول'

Figure 1- The effect of different rootstocks on the relative expression *of sucrose phosphate synthase1* gene of 'Thomson Navel' orange fruit (Dancan, $p \leq 0.01$)

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده نشان داد، بالاتر بودن میزان شاخص طعم و قندکل میوه پرتقال 'تامسون‌ناول' در پایه 'پونسیروس' سبب شد که رقم پیوندی روی این پایه نسبت به دو پایه دیگر کمی زودتر برداشت شود. در مقابل پایه 'سیتروملو' در مقایسه با دو پایه دیگر بلوغ دیررس میوه و بیان نسبی کمتر در ژن *CitSPS1* نشان داد. بر همین اساس، پایه پاکوتاه 'پونسیروس' گزینه مناسبی برای برداشت در زمان بلوغ تجاری پرتقال 'تامسون‌ناول' معرفی می‌گردد. هم‌چنین میزان ترکیبات فنلی این پایه سبب مقاومت بیشتر در برابر شرایط محیطی می‌گردد.

References

1- Akhlaghi Amiri, N., & Asadi Kangarshahi, A. (2022). Effect of C-35 Citrange rootstock on vegetative and reproductive characteristics of Miyagawa Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* 'Miyagawa') in the plain and foothills of East Mazandaran. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, *23*(1), 79-88. (In Persian)

2- Aguilar-Hernandez, M., Sanchez-Rodriguez, L., Hernandez, F., Forner-Giner, M.A., Postor-Perez, J., & Legua, P. (2020). Influence of new citrus rootstocks on lemon quality. *Agronomy*, 10(974), 10070974. https://doi.org/10.3390/agronomy10070974

3- Bakhshi, D., Fathollahi, S., & Arakawa, O. (2011). Evaluation of the relationship between phenolic compounds and skin color in three red apple cultivars in Japan. *Journal of Horticultural Science*, *24*(2), 251-258. (In Persian)

4- Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, *26*, 1199-1200. https://doi.org/10.1038/1811199a0

5- Castle, W., Baldwin, J., & Muraro, R. (2010). Performance of 'Valencia' sweet orange rrees on 12 rootstocks at two locations and an economic interpretation as a basis for rootstock selection. *HortScience*, *45*(4), 523-533. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.45.4.523

6- Chang, C., Yang, M., Wen, H., & Chern, J. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food Drug Analysis*, *10*, 178-182. https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748

7- Cherng, A.P., & Ouyang, F. (2003). A firmness index for fruit of ellipsoidal shape. *Biosystems Engineering*, *86*(1), 35-44. https://doi.org/10.1016/S1537-5110(03)00096-5

8- Citrus World Statistics. (2022). Word Citrus Organization. Summer 2021-Winter 2021-22.

9- Dong, T., Xiong, Bo., Huang, Sh., Liao, L., Qiu, X., Sun, G., He, Y., Duan, Ch., Wang, X., Zhang, X., Li, S., & Wang, Zh. (2019). Investigation of the cause of reduced sugar content in Kiyomi tangor fruit of ziyang xiangcheng (*Citrus junos sieb*. ex Tanaka) rootstock. *Scientific Reports*, *9*,19263. https://doi.org/10.1038/s41598-019-55957-3

10- Fattahi Moghaddam, J., Seyed Ghasemi, A., & Madani, S. (2016). The effect of five rootstocks on the physical, mechanical and chemical characteristics of Yashar tangerine fruit during ripening stage. *Journal of Plant Production*, *24*(2), 109-123. (In Persian)

11- Fallahi, M. (1990). *Postharvest physiology of vegetables*. Book (vol.I). Dashte Morghab Productive Group, pub. Shahin.

12- Fotouhi Ghazvini, R., & Fattahi Moghadam, J. (2007). *Citrus growing in Iran*. The University of Guilan Press. Second Edition, pp, 143-184. (In Persian)

13- Gaikwad, K.A., Patil, S.R., Nagre, P.K., & Potdukhe, NR. (2018). Morphological characterization of citrus rootstock genotypes. *International Journal of Chemical Studies*, *6*(2), 516-529.

14- Hayat, F., Li, J., Iqbal, Sh., Peng, Y., Hong, L., Balal, R., Khan, M.N., Nawaz, M., Nawa, M.A., Khan, U., Farhan, M.A., Li, C., Song, W., Tu, P., & Cheng, J. (2022). A mini review of citrus rootstocks and their role in high-density orchards. *Plants*, *11*, 2876. https://doi.org/10.3390/plants11212876

15- Hemmati, N., Ghasemnezhad, A., Fattahi Moghaddam, J., & Ebrahimi, P. (2015). Investigating the relationship between the accumulation of fruit phenolic compounds in Salvestiana and Italian orange cultivars, with their rootstock fruits. *Journal of Crop Improvement*, *17*(3), 571-581. (In Persian)

16- Hemmati, N., Ghasemnezhad, A., Fattahi Moghaddam, J., & Ebrahimi, P. (2018). Variation in the content of bioflavonoids of orange as affected by scion, rootstock, and fruit part. *Acta Physiologiae Plantarum*, *40*, 83. https://doi.org/10.1007/s11738-018-2648-1

17- Hong, H.R., Oh, E.U., Han, S.G., Yun, S.H., Kim, H.B., & Song, K.J. (2022). Characterization of soluble sugar content, related enzyme activity and gene expression in the fruits of 'Minihyang' mandarin on different rootstocks. *Horticulturae*, *8*, 47. https://doi.org/10.3390/horticulturae8010047

18- Iglesias, D.J., Cercos, M., Colmenero-Flores, J., Naranjo, M., Rios, G., Carrera, E., Ruiz-River, O., Liso, I., Morillon, R., Tadeo, F., & Talon, M. (2007). Physiology of citrus fruiting. *Plant Physiology*, *9*(4), 333-362. https://doi.org/10.1590/S1677-04202007000400006

19- Irigoyen, J.J., Emerich, D.W., & Sanchez-Diaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum*, *84*, 55-60. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb08764.x

20- Jaskani, M., Abbas, H., Khan, M., Shahzad, U., & Hussain, Z. (2006). Morphological despcription of three potential citrus rootstocks. *Pakistan Journal of Botany*, *38*(2), 311-317.

21- Kato, M., Ikoma, Y., Matsumoto, H., Sugiura, M., Hyodo, H., & Yano, M. (2004). Accumulation of carotenoids and expression of carotenoid biosynthetic genes during maturation in citrus fruit. *Plant Physiology*, *134*, 824–837. https://doi.org/10.1104/pp.103.031104

22- Khojastehnazhand, M., Omid, M., & Tebatabaeefar, A. (2010). Development of a lemon sorting system basedon color and size. *African Journal of Plant Science*, *4*(4), 122-127.

23- Kim, D.O., Padilla-Zakour, O.I., & Griffiths, P.D. (2004). Flavonoids and antioxidant capacity of various cabbage genotypes at juvenile stage. *Journal of Food Science*, *69*, 685-689. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb09916.x

24- Komatsu, A., Moriguchi, T., Koyama, K., Omura, M., & Akihama, T. (2002). Analysis of sucrose synthase genes in citrus suggests different roles and phylogentic relationship. *Journal of Experimental Botany*, *53*(366), 61-71. https://doi.org/10.1093/jexbot/53.366.61

25- Maazoun, A.M., Zerai, O., Aounallh, M.K., Bey, N., Hemmami, S., & Bettaieb, T. (2022). Rootstocks effects on yield, fruit characteristics, and juice quality of the Tunisian Malttese half-blood (*Citrus sinensis* L.Osbeck): an

important citrus cultivar. *International Journal of Horticulture, Agriculture and Food Science*, *6*(3). https://doi.org/10.22161/ijhaf.6.3.4

26- Macia-Vazquez, A., Martinez-Nicolas, J., Nunez-Gomez, D., Melgarejo, P., & Legua, P. (2024). Influnce of rootstock on yield, morphological, biochemical and sensory characteristics of Afourer variety mandarins. *Scentia Horticulturae*, *325*, 112644. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112644

27- Magwaza, L.S., Mditshwa, A., Tesfay, S.Z., & Opra, U.L. (2017). An overview of preharvest factors affecting vitamin C content of citrus fruit. *Scientia Horticulturae*, *216*, 12-21. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.12.021

28- Mashayekhi, K., & Atashi, S. (2017). *The analyzing methods in plant physiology*. Agricultural Education Research Publications. pp. 163-164. (In Persian)

29- Mashayekhi, K., Sadeghi, H., Akbarpour, V., Atashi, S., Mosavizadeh, J., Abshai, M., & Nazari, Z. (2014). The effect of several different citrus rootstocks on the amount of biochemical compounds of Parson Brown and Mars oranges in Jiroft. *Journal of Horticultural Science*, *27*(1), 10-17. (In Persian)

30- Mccready, R., Guggolz, M. J., Silviera, V., & Owens, H.S. (1950). Determination of starch and amylose in vegetables analytical. *Analytical Chemistry*, *22*, 1156-1158.

31- Mesejo, C., Marzal, A., Martinez-Fuentes, A., Reig, C., & Agusti, M., (2021). On how auxin, ethylene and IDA-peptide relate during mature *Citrus* fruit abscission. *Scientia Horticulturae*, *278*, 109855. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109855

32- Milosevic, T., Milosevic, N., & Mladenovic, J. (2023). Diversity of plums belonging to *P.domestica* L., *P.insititia* L. and *prunus × rossica* Erem. Tree vigour, yielding and fruit quality attributes. *Scientia Horticulturae*, *320*, 112220. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112220

33- Nawaz, R., Abbasi, N.A., Ahmad Hafiz, I., & Khalid, A. (2020). Impact of climate variables on fruit internal quality of Kinnow mandarin in ripening phase grown under varing environmental conditions. *Scientia Horticulturae*, *265*, 109235. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109235

34- Oustric, J., Morillon, R., Luro, F., Herbette, S., Lourkisti, R., Giannettini, J., Berti, L., & Santini, J. (2017). Tetraploid Carrizo Citrange rootstock (*Citrus sinensis* Osb.×*Poncirus trifoliate* L. Raf.) enhances natural chilling stress tolerance of common clementine (*Citrus clementine* Hort. ex Tan). *Journal of Plant Physiology*, *214*, 108-115. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2017.04.014

35- Peng, G., Xie, X., Jiang, Q., Song, S., & Xu, Ch. (2013). Chlorophyll *a*/*b* binding protein plays a key role in natural and ethylene-induced degreening of Ponkan (*Citrus reticulate* Blanco). *Scientia Horticulturae*, *160*, 37-43. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.05.022

36- Razavi, M.A., & Akbari, R. (2009). *Biophysical properties of agricultural products and foodstuffs*. Jahad Daneshgahi of Mashad University. Press, p. 304.

37- Sarkar, N., Srivastava, P.K., & Dubey, V.K. (2009). Understanding the language of vitamin C. *Current Nutrition & Food Science*, *5*, 53–5. https://doi.org/10.2174/157340109787314767

38- Sattar, N., Ziauddin, Sh., Kalsoom, S., Shahid, A., Ullah, R., & Dar, A. (2014). An orange sorting technique based on size and external defects. *ResearchGate*, 274314889.

39- Skinner, J. (1997). Measuring the amount of vitamin C in fruit drinks. Experiments. Royal Society of Chemistry. p.67.

40- Swingle, W.T., & Reece, P.C. (1967). The botany of Citrus and its wild relatives. The citrus industry, vol 1. University of California, Berkeley, pp. 190–430.

41- Tehranifar, A., Zarei, M., Esfandiyari, B., & Nemati, Z. (2014). Study of physical properties, phenolics compounds and antioxidant activity of thirty different Iranian cultivars of pomegranates peels. *Journal of Horticultural Science*, *28*(3), 312-318. (In Persian)

42- Yamaki, S. (2010). Metabolism and accumulation of sugars translocated to fruit and their regulation. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, *79*(1), 1-15.